

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 1 月 15 日 (15.01.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/005490 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 1/18, A21D 8/04 (74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号新大手町ビル206区ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2002/006844
- (22) 国際出願日: 2002 年 7 月 5 日 (05.07.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本たばこ産業株式会社 (JAPAN TOBACCO INC.) [JP/JP]; 〒105-8422 東京都港区虎ノ門2丁目2番1号 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 長澤 淳 (NAGA-SAWA, Atsushi) [JP/JP]; 〒144-0042 東京都大田区羽田旭町5-14 日本たばこ産業株式会社 食品開発センター内 Tokyo (JP).
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

/続葉有/

(54) Title: NOVEL BAKER' S YEAST AND BREAD USING THE SAME

(54) 発明の名称: 新規パン酵母及びそれを用いたパン

(57) Abstract: A baker' s yeast, which is characterized by having an iso-butyric acid content in dry cells of 150 ppm or less and showing little offensive taste and odor characteristic to yeasts, is obtained by crossing via sexual reproduction a yeast monoploid strain obtained by germinating a spore of a baker' s yeast diploid strain optionally having cold-tolerance with another monoploid yeast strain obtained by germinating a spore of a sake yeast diploid or a wild yeast diploid showing little offensive taste and odor characteristic to yeasts and then selecting a strain showing little offensive taste and odor characteristic to yeasts and having, if needed, cold-tolerance from the thus obtained strains.

(57) 要約:

冷凍耐性であってよいパン酵母の二倍体株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株と、酵母特有の異味、異臭が弱い酒酵母や野生酵母の二倍体株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株とを有性生殖交配させて得られた酵母株から、酵母特有の異味、異臭が弱く、必要なら冷凍耐性も有する菌株を選択することにより得られる、乾燥菌体中のイソ酪酸含有量が150ppm以下であり、酵母特有の異味、異臭が極めて弱いことを特徴とするパン酵母。

WO 2004/005490 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

新規パン酵母及びそれを用いたパン

5 発明の分野

本発明は冷凍耐性を有し、かつ酵母特有の異味、異臭が極めて弱い新規パン酵母及びこれを用いたパンに関するものである。

従来の技術

- 10 近年、冷凍生地製パン技術は焼きたてパンの提供、製パン工程の効率化による労働時間の短縮等のメリットから製パン業界での比重を高めつつある。冷凍生地は小麦粉、砂糖、食塩、油脂、酵母、水等のパン原料を混合、成型し－20℃前後で凍結保存され、必要に応じて解凍し、最終発酵を行ってから焼成される。長期の冷凍保存を行った場合、たとえ冷凍耐性酵母でも多少の冷凍傷害を受けることと、解凍後の最終発酵時間を短縮するためにも、通常のパンに比べ、冷凍生地
- 15 は酵母の添加量を2～3倍程度に増やすことが一般的に行われている。また、酵母の冷凍傷害を出来るだけ防止するために捏ね上げ後にほとんど発酵を取らないノータイム法も一般に採用されている。しかしながら酵母を増量することにより酵母特有の異味、異臭が強く感じられパンの風味が好ましくないものとなる。また、発酵をほとんど取らないノータイム生地では発酵風味が弱い分、酵母特有の
- 20 異味、異臭がより強く感じられてパンの風味はさらに好ましくないものとなる。

また、生地を冷凍しない通常の製パン法（スクラッチ法）においても作業時間短縮のため、発酵時間を短縮した製パン法を用いた場合は上記と同様の理由によりパンの風味は好ましくないものとなる。

- 25 さらに、高価な発酵バターやサワークリームのような油脂類、あるいはパネトーネ種や酒種のような発酵種を用いたパンを従来のパン酵母を用いて製造した場合、パン酵母特有の異味、異臭がそれらの香りをマスキングし風味を損ねることが考えられた。

発明の概要

本発明は、酵母特有の異味、異臭が極めて弱い新規パン酵母を提供する。本発明は、冷凍耐性を有し、酵母特有の異味、異臭が極めて弱い新規パン酵母も提供する。本発明の酵母は、酵母特有の異味、異臭の悪影響を受けない優れた風味の

5 パンの製造を可能とする。

図面の簡単な説明

図 1 は、本発明の酵母 F T - 4 株およびいくつかの比較酵母を用いて調製したパン生地を 1 日～3 ヶ月冷凍保管した後の解凍生地の発酵力を、120 分間の
10 トータルガス発生量で示すグラフである。図 1 A は低糖生地で、図 1 B は高糖生地での結果を示す。

図 2 は、本発明の酵母 F T - 4 株およびいくつかの比較酵母を用いて調製したパン生地の酵母臭を、官能試験で評価した結果を示すグラフである。

15 発明の詳細な説明

本発明者らは、上記課題を解決するべく、パン酵母や酒酵母等の保有菌株間の交雑や古典変異等により育種した菌株から高い発酵力を持ち、酵母特有の異味、異臭が極めて弱いパン酵母を見出すことに成功し、本発明を完成した。

すなわち、本発明により見出された新規パン酵母サッカロミセス・セレビジエ
20 (*Saccharomyces cerevisiae*) F T - 4 株は、酵母特有の異味、異臭が極めて弱く、ほとんど感じられないものである。さらに、F T - 4 株は当社の既存冷凍耐性酵母よりも優れた冷凍耐性と幅広い糖領域での発酵能をもっている。

また、本発明の新規パン酵母サッカロミセス・セレビジエ F T - 4 株を用いることで通常のパン酵母を用いたパンに比較して明らかに酵母特有の異味、異臭
25 が弱く、風味の好ましいパンを製造することが可能となった。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明でいうパン酵母はサッカロミセス・セレビジエに限定されるものではなくサッカロミセス・ロゼイやサッカロミセス・ウバルム、サッカロミセス・シバリエリ、トルラスボラ・デルブルーキー、場合によってはクルペロマイセス・サ

ーモトレランス、サッカロミセス・スパーシーズ等もあげることが出来る。

本発明で得られた代表的なパン酵母であるサッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) F T - 4 株の菌学的性質を以下に示す。本菌株は、
日本国つくば市東 1 丁目 1 番地 1 中央第 6 の独立行政法人産業技術総合研究所へ
5 2002 年 6 月 20 日付けで寄託され、FERM BP-8081 の受託番号が付与された。

サッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) F T - 4 株の菌学的性質

- ① 形状 YPD 培地で培養した菌体を顕微鏡にて観察した。
- ② 大きさ 同様に YPD 培地で培養した菌体を顕微鏡にて観察した。
- 10 ③ 孢子形成 YPD 寒天培地で培養した菌体を S h a r m a n 寒天培地に接種し、20～25℃で3～10日間培養し、顕微鏡で孢子形成の有無を確認した。尚、YPD 培地、YPD 寒天培地及び S h a r m a n 寒天培地の組成を表 1 に示す。

表 1 培地組成

	YPD 培地	YPD 寒天培地	Sherman 寒天培地
酵母エキス	5 g	5 g	1 g
ペプトン	10 g	10 g	—
D-グルコース	40 g	40 g	0.5 g
KH ₂ PO ₄	5 g	5 g	—
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2 g	2 g	—
CH ₃ COOK	—	—	1 g
寒天	—	20 g	20 g
蒸留水	1000 ml	1000 ml	1000 ml
調製 pH	5.5	5.5	7.2

15

- ④ 炭素源の資化性と発酵性： 資化性の分析は、YPD 寒天培地で培養した新鮮な菌体を一白金耳滅菌水 5 ml に懸濁した後、滅菌水にて 2 回菌体を遠心集菌洗浄し、再度、滅菌水 5 ml に懸濁した液を各種炭素源を添加、滅菌した培地 (Yeast nitrogen base 0.67 g、各種炭素源 0.1 g、水 10 ml) 5 ml
20 を入れたチューブ (Sarstedt tube 101 mm×16.5 mm) に 0.1 ml 接種し 30℃にて 48 時間振とう培養後、660 nm の吸光度を測定し生育状況を濁

度で判定した。発酵性は、同様に調整した菌体懸濁液を同培地 10 ml とダーラム管を入れたガラス試験管 (180 mm × 15 mm) に 0.1 ml 接種し、30℃にて1週間静置培養した後、ダーラム管中の気泡の有無を確認した。

- ⑤ 硝酸塩の資化性： Sarstedt チューブに硝酸塩培地 (Yeast carbon base 1. 17 g、硝酸カリウム 7.8 g、水 10 ml) 5 ml を分注、滅菌し、炭素源の資化性試験と同様に調整した菌体懸濁液を 0.1 ml 接種し、30℃で48時間振とう培養後、660 nm の吸光度を測定し生育状況を濁度で判定した。

- ⑥ ビタミン要求性： Sarstedt チューブにビタミン欠乏培地 (Vitamin free-base 1. 67 g、各ビタミン溶液 0.5 ml、水 10 ml) 5 ml を分注、滅菌 (ビタミン溶液は滅菌冷却後、無菌フィルターを通し添加) した後、炭素源の資化性試験と同様に調整した菌体懸濁液を 0.1 ml 接種し、30℃で48時間振とう培養後、660 nm の吸光度を測定し生育状況を濁度で判定した。

表2 FT-4株の菌学的性質

形状	円形～卵形	
大きさ	2～10×4～15 μm	
孢子形成	有り	
炭素源の資化性と発酵性	資化性	発酵性
D-グルコース	+	+
D-ガラクトース	+	—
サッカロース	+	+
マルトース	+	+
ラクトース	—	—
ラフィノース	+	—
スターチ	—	—
硝酸塩の資化性	—	
ビタミン要求性	ビオチン	+
	パントテン酸 Ca	—
	葉酸	—
	ナイアシン	—
	イノシトール	—
	塩酸ピリドキシン	—
	リボフラビン	—
	塩酸チアミン	—

- 15 表2の結果から供試菌株はサッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces*

cerevisiae) と同定できる。

本発明でいう「酵母特有の異味、異臭」とは生酵母菌体を直接食した場合、特に明確に感じられる泥臭い又は生臭い風味のことで、酵母臭ともいわれている。

これらの風味は小麦粉 100 に対して 7 以上の酵母を添加する冷凍生地でも同様に感じられるものである。また、酵母を 2～3 % 程度しか使用しないスクラッチ製法のパンでも酵母特有の異味、異臭は存在しているが、従来の酵母を用いている場合、パンの風味の一部として認識されている。

酵母特有の異味、異臭の原因となる物質は多種多様な化合物からなり、一種類の化合物に限定するのは困難ではあるが、腐敗臭を持つ直鎖脂肪酸として知られるイソ酪酸が原因物質の一つであると推測される。本発明で得られた酵母特有の異味、異臭が極めて弱いことを特徴とするサッカロミセス・セレビジエ F T-4 株の乾燥菌体をビーズ破碎し、イソ酪酸の含有量を測定したところ通常の冷凍耐性酵母が乾燥菌体当たりのイソ酪酸含有量が 300～1,000 ppm だったのに対しサッカロミセス・セレビジエ F T-4 株のイソ酪酸含有量は 125 ppm であり、従来のパン酵母の半分以下の含有量であることが確認された。

本発明でいう冷凍耐性とは、冷凍により障害を受けないか、受けにくいことをいう。例えば、調製した生地を 30℃ の恒温器中にて 60 分間発酵させ、発酵終了後、30g に分割、丸目をした後、その生地玉を -20℃ で冷凍する。1 日後に 38℃ で 120 分間、解凍しつつ発酵させた際に発生する炭酸ガス発生量を測定し、冷凍 1 日後の発酵力とする。一方、1 ヶ月冷凍した同じ生地を 38℃ で 120 分間、解凍しつつ発酵させた際に発生する炭酸ガス発生量を測定し、冷凍 1 ヶ月後の発酵力とする。冷凍 1 日後の発酵力を 100 として、冷凍 1 ヶ月後の発酵力の割合を求め、発酵力残存率とした場合、冷凍耐性がある酵母とは、例えば砂糖が 5 % の低糖生地において発酵力残存率が 80 % 以上、砂糖添加量が 25 % の高糖生地において 90 % 以上を示すような酵母が該当する。

冷凍生地製法に対するものとしてスクラッチ製法が挙げられる。スクラッチ製法とは生地を冷凍することなく生地ミキシングから発酵（一次発酵、二次発酵を含む）、分割、成型、最終発酵、焼成までの一連の工程を連続して行うものであり、中種法、ストレート法、ノータイム法、中麺法、老麺法等の多種多様な製法が従

来から用いられている。本発明で得られた新規パン酵母は冷凍耐性を有するものであるが、上記のようなスクラッチ製法に用いても何ら問題はない。

上記の砂糖添加量は小麦粉 100 に対する重量％で示される。通常、無糖生地とは砂糖無添加生地をいう。低糖生地とは砂糖が 10 %未満の生地をいうが、本
5 発明では砂糖添加量 5 %の生地を低糖生地とする。高糖生地とは通常、砂糖添加量が 20 %以上 35 %未満の生地をいうが、本発明では砂糖添加量 25 %の生地を高糖生地としている。

冷凍耐性を有してよく、かつ酵母特有の異味、異臭が極めて弱いことを特徴とする本発明のパン酵母は、冷凍耐性を有してよいパン酵母の二倍体株の胞子を発
10 芽させて得た一倍体酵母菌株と、酵母特有の異味、異臭が弱い酒酵母や野生酵母の二倍体株の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株とを有性生殖交配させて得られる酵母菌株から、実施例 1 に記載するスクリーニング法により酵母特有の異味、異臭の弱い菌株を選択することにより得ることができる。さらに、該スクリー
15 ニングの前または後に、実施例 1 に記載するスクリーニング法により冷凍耐性を有する菌株を選択して、冷凍耐性を有し且つ酵母特有の異味、異臭が極めて弱い酵母菌株を得ることも出来る。そのような菌株は本発明の好ましい態様である。さらにまた、冷凍耐性を有するパン酵母に死滅率 99 %前後の条件下で紫外線を照射し変異を起こさせて同様のスクリーニング法にて冷凍耐性を有し、かつ酵母特有の異味、異臭が極めて弱い菌株を得ることも出来る。

20

実施例

以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例 1 サッカロミセス・セレビジエ F T-4 株の育種とスクリーニング

25 少なくとも強い冷凍耐性を有するサッカロミセス・セレビジエに属する二倍体酵母菌株（当社 Y F イースト）の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株と、冷凍耐性を有しないが酵母特有の異味、異臭が弱いサッカロミセス・セレビジエに属する二倍体酵母菌株（当社保有の清酒用酵母）の胞子を発芽させて得た一倍体酵母菌株とを有性生殖交配させることにより多数の二倍体酵母菌株を得た。

次にこれらの菌株について冷凍耐性の一次スクリーニングを実施した。13 ml 容チューブにYPD液体培地3 mlを入れ、121℃、15分滅菌した後、各菌株を一白金耳、接種し30℃において20時間振とう培養した。得られた菌体を3,000 rpm、15分遠心分離し集菌後、冷水にて2回洗浄、集菌した。

- 5 集菌した菌体にLF培地（グルコース10 g、マルトース30 g、スクロース30 gを蒸留水にて1 Lにメスアップ）3 mlを加え、30℃にて1時間静置発酵後、3,000 rpm、10分遠心分離し、上清のエタノール含有量をバイオセンサーBF-4（王子計測機器社製）にて測定した後、再度、vortexにて懸濁して-20℃で2週間冷凍保存した。2週間後、30℃で1時間、解凍しつつ発酵させた後、3,000 rpm、10分遠心分離し、上清のエタノール含有量をバイオセンサーBF-4（王子計測機器社製）にて測定した。得られた数値から冷凍前のエタノール生成量を引いた値を解凍後の生成量とし、最終エタノール濃度に占める割合が40%以上の菌株を選抜した。
- 10

- 冷凍耐性の二次スクリーニングは500 ml 容バッフル付き三角フラスコに15 00 mlのYPD液体培地を分注し、121℃、15分滅菌した後、各菌株を一白金耳、接種し30℃において20時間振とう培養した。培養液を遠心チューブに移し、3000 rpm、15分遠心分離、集菌後、冷水にて2回洗浄、菌体を得た。

- 次に得られた菌株の低糖生地発酵力を測定した。表5に示した低糖生地の各原料を20 グラムミキサーに投入し、ミキシングタイム2分、目標捏上温度30℃にて生地を調製した。次いで、得られた生地を30℃の恒温器中にて60分間発酵させ、発酵終了後、30 gに分割、丸目をした後、その生地玉を-20℃で冷凍した。1日後に38℃で120分間、解凍しつつ発酵させた際に発生する炭酸ガス発生量をファーモグラフ（アトー社製）にて測定し、冷凍1日後の発酵力とした。
- 25 一方、1ヶ月冷凍した同じ生地を38℃で120分間、解凍しつつ発酵させた際に発生する炭酸ガス発生量を同様にファーモグラフにて測定し、冷凍1ヶ月後の発酵力とした。冷凍1日後の発酵力を100として、冷凍1ヶ月後の発酵力の割合を発酵力残存率とし、この値が80%以上の菌株を選抜した。

次に得られた冷凍耐性菌株の酵母特有の異味、異臭についてスクリーニングを

実施した。一次スクリーニングは各菌株を上記試験と同様に 500ml バッフル付き三角フラスコにて培養、集菌、洗浄し、菌体を得た。これらの菌体について被験者 10 名にて官能試験を実施、酵母特有の異味、異臭が少ない菌株を選抜した。

- 5 二次スクリーニングは菌体を蒸留水にて固形分 20% に調整後、ビーズ破碎し上清のイソ酪酸含有量をガスクロマトグラフィー（島津社製）にて測定した。得られたイソ酪酸含有量が菌体乾燥固形分あたり 200 ppm 以下の菌体を選抜した。

- 上記の条件を満たし、製パン試験においても良好な結果が得られた菌株が 4 株
10 選択され、内、一つをサッカロミセス セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) FT-4 株と命名した。

実施例 2 イソ酪酸含有量の比較

- FT-4 株及び各社パン酵母を 500ml 容バッフル付き三角フラスコ中の YPD 液体培地 100ml に一白金耳、植菌し、30℃、20 時間振とう培養した。
15 培養液を 3,000 rpm、5 分遠心分離し集菌後、滅菌蒸留水にて 2 回洗浄し、得られた洗浄菌体を凍結乾燥した。凍結乾燥菌体に冷水を加え、固形分 20% に調整後、ガラスビーズを 10% 加え vortex にて高速攪拌し菌体を破碎した。10,000 rpm、10 分の遠心分離後、上清のイソ酪酸含有量をガスクロマトグラフィーにて測定し、乾燥固形分あたりのイソ酪酸含有量を求めた。
20 表 3 に測定結果を示したが、本発明株のイソ酪酸含有量は比較したパン酵母の 1/2 以下だった。

表 3 各社パン酵母イソ酪酸含有量の比較

	イソ酪酸含有量
FT-4 株	125 ppm
当社非冷凍生地用 45 イースト	375 ppm
当社冷凍生地用 YF イースト	310 ppm
A 社冷凍生地用 イースト 1	530 ppm
A 社冷凍生地用 イースト 2	360 ppm
B 社冷凍生地用 イースト 1	595 ppm
B 社冷凍生地用 イースト 2	990 ppm
C 社冷凍生地用 イースト	395 ppm
D 社冷凍生地用 イースト	730 ppm

実施例 3 非冷凍生地発酵力

下記の工程に従い 300 L ジャーファーマンターにて培養した FT-4 株菌体を用いてイースト工業会法にて非冷凍生地発酵力を測定した。

・ FT-4 株の培養

5 (1) シード用酵母培養

500 ml 容バッフル付き三角フラスコ中の YPD 液体培地 200 ml に FT-4 株を一白金耳、植菌し、30℃ 24 時間振とう培養した培養液を 30 L ジャーファーマンター中の糖蜜培地 15 L (表 4 参照) に接種し、表 4 に示した条件で 300 L ジャーファーマンター培養用のシード用酵母とした。

10 (2) 300 L ジャーファーマンター培養

300 L ジャーファーマンターに表 4 の本培養用培地 150 L を調整後、30 L ジャーファーマンターで培養したシードを全量接種し、以下に示す条件で培養を行った。

表 4 FT-4 株培養条件

原料配合量	シード培養	本培養	備考
調製糖液	3.5 L	30 L	フィリピン産廃糖蜜を糖濃度 40% に調製
尿素	35 g	800 g	
第一リン酸アンモニウム	30 g	350 g	
硫酸アンモニウム	30 g		
水	15 L	150 L	
培養条件			
培養温度	30-32℃	30-32℃	
通気量	30 L/min	300 L/min	
攪拌	400 rpm	450 rpm	
pH	5.0-6.0	5.0-6.0	
培養時間	16 時間	16 時間	

15

培養終了後、直ちに培養液を遠心分離し菌体を分離後、濾布を用いて圧搾脱水し、水分 65～67% の菌体を得た。

・ 非冷凍生地発酵力の測定

表 5 に示される生地組成における非冷凍時の発酵力を測定した。即ち、原料を

グラムミキサー（米国 National 社製）にて2分間ミキシングし、得られた生地を30gに分割してファーモグラフ（アトー社製）を用いて30℃、120分間で発生するトータルガス発生量を測定した。

表5 イースト工業会法生地組成

	小麦粉	砂糖	食塩	イースト	水
無糖生地	100g	0g	2g	2g	65g
低糖生地	100g	5g	2g	2g	62g
高糖生地	100g	30g	0.5g	3g	52g

5

表6に結果を示した。本発明により得られた菌株は当社従来菌株や市販イーストと比較して低糖生地やや低いものの無糖生地と高糖生地では強い非冷凍生地発酵力を示し、広範囲の糖領域で使用可能な万能性があることを示唆した。

表6 非冷凍生地発酵力の比較

	FT-4株	当社 非冷凍生地用 45イースト	当社 冷凍生地用 Y.Fイースト	A社市販 非冷凍生地用 イースト	B社市販 非冷凍生地用 イースト	C社市販 非冷凍生地用 イースト
無糖生地	82.8	72.8	65.2	68.1	64.6	70.5
低糖生地	92.4	100.7	81.0	99.3	92.3	95.9
高糖生地	83.6	68.5	65.1	60.2	70.1	68.2

10

実施例4 冷凍生地発酵力の比較

実施例3で得られた菌体を用いて低糖生地および高糖生地における冷凍耐性を測定した。表7に示した生地組成に従い調合した原料をグラムミキサー（米国 National 社製）にて2分間ミキシングし、得られた生地は、25℃のインキュベーター中で60分間発酵した。発酵終了後、生地を30gに分割した後、ポリ袋に入れて-20℃で冷凍保管した。解凍は冷凍後、1日、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月後に生地を冷凍庫から取り出し、ファーモグラフ測定用ガラス瓶に入れ、38℃、120分間のトータルガス発生量をファーモグラフ（アトー社製）にて測定した。

15

20

表7 冷凍生地試験生地組成

	小麦粉	砂糖	食塩	イースト	水
低糖生地	100g	5g	1.5g	7g	62g
高糖生地	100g	25g	1.5g	6g	55g

- 図 1 に 120 分間のトータルガス発生量の経過グラフを、表 8 に冷凍保存 1 ヶ月後の発酵力残存率を示した。本発明株 FT-4 株は低糖生地で 80 % 以上、高糖生地で 90 % 以上の発酵力残存率を示した。また、3 ヶ月間の発酵力経過から
- 5 も従来品に比較して良好な冷凍耐性能を有することが確認された。

表 8 冷凍保存 1 ヶ月後の発酵力残存率

	FT-4 株	当社 冷凍生地用 YF イースト	A 社市販 冷凍生地用 イースト	B 社市販 冷凍生地用 イースト	C 社市販 冷凍生地用 イースト
低糖生地	88.1 %	81.8 %	74.1 %	77.1 %	81.6 %
高糖生地	92.6 %	91.9 %	80.9 %	87.5 %	86.5 %

実施例 5 酵母臭の比較

- 実施例 3 で得られた菌体の酵母特有の異味、異臭の強度について当社非冷凍生
- 10 地用 45 イーストを基準に被験者 10 名にて官能試験を実施した。官能試験は 45 イーストに比較して酵母臭が「極めて弱い (1 点)」、「弱い (2 点)」、「普通 (同程度、3 点)」、「強い (4 点)」、「極めて強い (5 点)」の 5 段階にて評価し、平均値を求めた。

- 図 2 に結果を示した。本発明株は他の酵母に比較して酵母特有の異味、異臭が
- 15 極めて弱く、無味無臭に近いものだった。

実施例 6 製パン試験

- 実施例 3 で得られた菌体を用い、表 9 に示した配合および工程に従い、食パン、バターロール、菓子パンの冷凍生地製パン試験を実施した。冷凍した生地は 1 ヶ月目、2 ヶ月目、3 ヶ月目に解凍し、ホイロ時間、焼成後のパン体積を測定した。
- 20 尚、ホイロ時間とパン体積の測定および風味の判定は以下のように実施した。

ホイロ時間・・・各生地毎に設定した一定容積に達するまでの時間 (食パン生地の場合はケース上部で測定。バターロール、菓子パンの場合は別途凍結保存した 100 g 丸生地をピーカーにて解凍し測定)。

- パン容積・・・ホイロにて一定容積に達した生地を焼成後、直ちに菜種法に
- 25 て容積を測定 (n = 5 以上)。

風味・・・被験者 10 名にて焼成したパンの風味が好ましいかどうかを

5段階で評価（非常に好ましい＝5点、好ましい＝4点、どちらでもない＝3点、好ましくない＝2点、非常に好ましくない＝1点）。各パンの得点を平均し、4点以上を「◎」、4～3点を「○」、3～2点を「△」、2点以下を「×」とした。

表9 製パン試験配合・工程

		食パン生地玉冷凍	バターロール成型冷凍	菓子パン成型冷凍
配合	強力粉	100.0%	100.0%	100.0%
	砂糖	5.0%	10.0%	25.0%
	食塩	2.0%	1.5%	1.0%
	生地改良剤(ハイター-SP)	1.0%	1.0%	1.0%
	イースト	5.0%	6.0%	7.0%
	脱脂粉乳	2.0%	2.0%	2.0%
	ショートニング	5.0%	—	10.0%
	マーガリン(エーデル CP50)	—	14.0%	—
	全卵	—	10.0%	15.0%
	水	66.0%	53.0%	42.0%
工程	ミキシング	L2M3↓L1M3H6	L2M3↓L1M3H6	L2M3↓L1M3H6
	捏上温度	20℃	20℃	20℃
	フロアタイム	10分/20℃	10分/20℃	15分/20℃
	分割重量	450g	40g	50g
	ベンチタイム	10分	10分	10分
	成 型	生地厚20mm圧延	バターロール成型	ロール成型
	急速冷凍	−30℃	−30℃	−30℃
	冷凍保管	−20℃	−20℃	−20℃
	解凍条件	20℃/150分	20℃/90分	20℃/90分
	丸 め	丸め直し		
	ベンチタイム	25分/30℃		
	成 型	ワンローフ成型		
	ホイロ条件	38℃ RH85%	38℃ RH85%	38℃ RH85%
	焼成条件	200℃/26分	200℃/10分	200℃/9分

5

製パン試験結果は表10に示した。本発明株を用いた冷凍生地はいずれの生地もホイロ時間が既存株より短時間で推移しており、低糖、中糖、高糖すべての生地においてその発酵力は既存株を上回っている。また、パンの風味は1ヶ月の冷凍保存後の段階では酵母臭が少なくすっきりとしていて好ましい風味だった。また、2ヶ月、3ヶ月の長期冷凍保存後でも酵母臭が少ないことに加えて冷凍障害による酵母死滅に伴う死滅臭の発生が他の酵母に比べて非常に少なく大変好ましい風味であった。

10

表 10 製パン試験結果

・食パン

	冷凍期間	FT-4株	当社冷凍生地用 YFイースト	A社市販冷凍生 地用イースト	B社市販冷凍生 地用イースト
ホイロ時間	1ヶ月	48分	47分	52分	52分
	2ヶ月	55分	58分	59分	60分
	3ヶ月	57分	62分	60分	65分
パン 体積	1ヶ月	2480ml	2340ml	2490ml	2490ml
	2ヶ月	2410ml	2345ml	2320ml	2320ml
	3ヶ月	2390ml	2350ml	2310ml	2310ml
風味	1ヶ月	◎	○	○	○
	2ヶ月	◎	△	×	×
	3ヶ月	◎	×	×	×

・バターロール

	冷凍期間	FT-4株	当社冷凍生地用 YFイースト	A社市販冷凍生 地用イースト	B社市販冷凍生 地用イースト
ホイロ時間	1ヶ月	34分	38分	36分	37分
	2ヶ月	38分	44分	44分	45分
	3ヶ月	39分	42分	46分	49分
パン 体積	1ヶ月	315ml	300ml	283ml	300ml
	2ヶ月	287ml	270ml	253ml	265ml
	3ヶ月	283ml	260ml	230ml	250ml
風味	1ヶ月	◎	○	○	○
	2ヶ月	◎	○	△	△
	3ヶ月	◎	△	×	×

・菓子パン

	冷凍期間	FT-4株	当社冷凍生地用 YFイースト	A社市販冷凍生 地用イースト	B社市販冷凍生 地用イースト
ホイロ時間	1ヶ月	42分	49分	52分	49分
	2ヶ月	55分	58分	59分	60分
	3ヶ月	56分	62分	65分	66分
パン 体積	1ヶ月	335ml	327ml	330ml	315ml
	2ヶ月	320ml	303ml	300ml	305ml
	3ヶ月	315ml	305ml	290ml	295ml

風味	1ヶ月	◎	○	○	○
	2ヶ月	◎	○	○	○
	3ヶ月	◎	○	△	△

発明の効果

- 本発明の完成により、冷凍耐性を有し、酵母特有の異味、異臭が極めて弱い新規パン酵母を提供することが可能となり、酵母特有の異味、異臭の悪影響を受けない優れた風味のパンの製造が可能となった。
- 5

請求の範囲

1. 乾燥菌体中のイソ酪酸含有料が150ppm以下であることにより、酵母特有の異味、異臭が弱いことを特徴とするパン酵母。
- 5 2. サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属である請求項1のパン酵母。
3. サッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) である請求項2のパン酵母。
4. 冷凍耐性を有する請求項1ないし3のいずれか1項のパン酵母。
5. サッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) FT-4株
- 10 (FERM BP-8081) である、請求項4のパン酵母。
6. 請求項1～4のいずれか1項記載のパン酵母を用いて製造されるパン生地。
7. 請求項1～4のいずれか1項記載のパン酵母を用いて製造される酵母特有の異味、異臭が極めて弱いことを特徴とするパンの製造方法。
- 15 8. サッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) FT-4株 (FERM BP-8081) を用いて製造されるパン生地。
9. サッカロミセス・セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) FT-4株 (FERM BP-8081) を用いて製造される酵母特有の異味、異臭が極めて弱いことを特徴とするパンの製造方法。

図 1

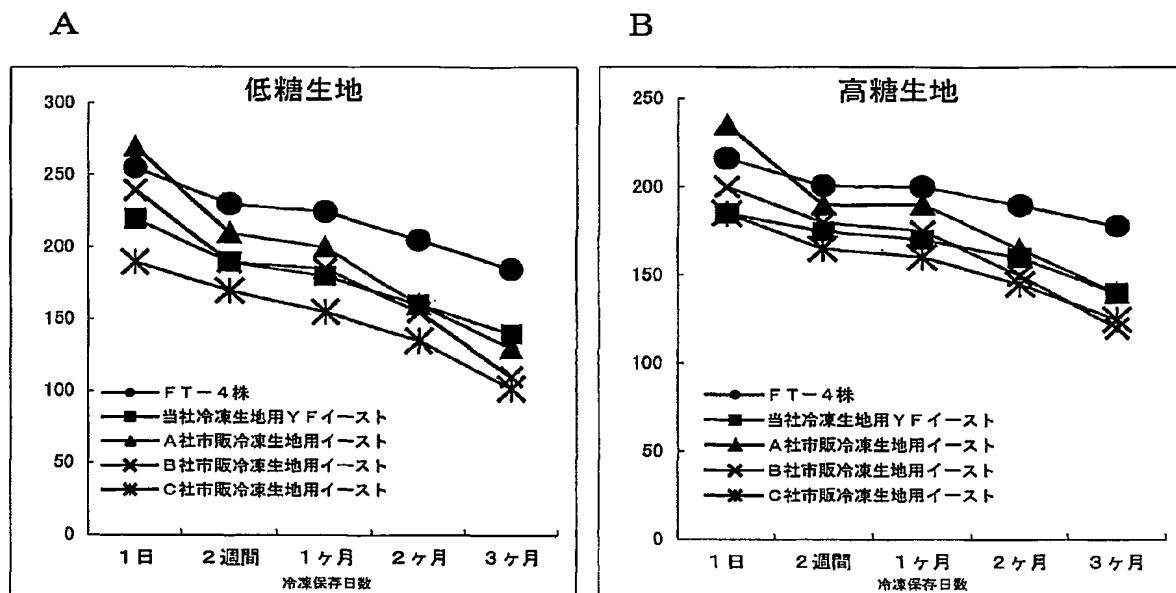
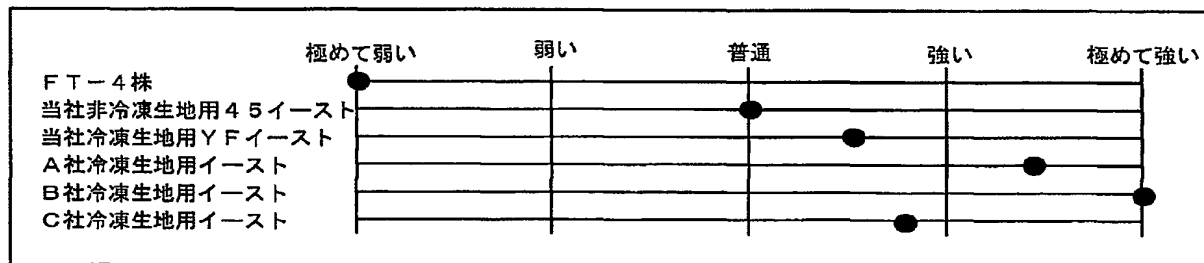


図 2

官能試験による酵母臭強度比較



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06844

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12N1/18, A21D8/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C12N1/18, A21D8/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 6-52 A (Sankyo Co., Ltd., Sankyo Foods Kabushiki Kaisha), 11 January, 1994 (11.01.94), Table 7 (Family: none)	1-3, 6, 7 4-9
Y	EP 1036841 A1 (Oriental Yeast Co., Ltd.), 10 October, 2000 (10.10.00), & JP 2000-279165 A Example 10	4-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 August, 2002 (01.08.02)

Date of mailing of the international search report
20 August, 2002 (20.08.02)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl¹ C12N1/18, A21D8/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl¹ C12N1/18, A21D8/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 6-52 A (Sankyo Co. LTD, Sankyo Foods KK) 1994.01.11 表7	1-3, 6, 7
Y	(ファミリーなし)	4-9
Y	EP 1036841 A1 (ORIENTAL YEAST Co. LTD) 2000.10.10 & JP 2000-279165 A 実施例10	4-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

01.08.02

国際調査報告の発送日

20.08.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 明 照

(印)

4B

8412

電話番号 03-3581-1101 内線 3448